Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Prof. Dr. W. Blumenberg.

Die Verwendung der Stärkeplatte im praktischen Betrieb eines Medizinaluntersuchungamtes.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades in der Medizin
bei der Hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Breslau.

Vorgelegt von

Helmut Göpel

Arzt.

Breslau 1940.

Buchdruckerei und Verlag Eugen Jakubik, Breslau 10, Wörtherstraße 6

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Breslau.

Referent: Prof. Dr. Blumenberg.
Dekan: Prof. Dr. Gottron.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit!

Inhalt.

Seite

A. Geschichte der Nährböden 1
1. Bakteriologische Untersuchungsmethoden vor Robert Koch 1
2. Das Plattenkulturverfahren von Robert Koch 2
3. Regenerierung von Agar, ein Versuch, dem im Weltkrieg eingetretenen Agarmangel abzuhelfen 3
4. Sojabohnen- und Süßlupinenmehl als Ersatz für Fleischbrühe in den Nährböden 4
5. Anorganische Stoffe als Ersatz für Agar 4
6. Organische Stoffe als Ersatz für Agar 7

B. Eigene praktische Erfahrungen über die Herstellung fester Nährböden auf Stärkegrundlage 10
1. Die Sterilisierung der Maisstärke 10
2 Die Herstellung von Endoplatten 10
3. „ „ „ Brillantgrünplatten 12
4. „ „ „ Blutplatten 12
5. „ „ „ Kochblutplatten 13
6. „ „ „ Aszitesplatten 13
7. Die Aufbewahrung der Stärkeplatten 14
8. Die Herstellung von Stärkeschrägröhrchen 14

C. Das Wachstum von Laboratoriumsstämmen auf Stärkeplatten 14

D. Prüfung der Stärkeplatten im praktischen Betrieb des Untersuchungsamtes 15
1. Versuchsanordnung 15
2 Typhusstation 15
3. Variastation 19
4. Beobachtete Kolonieformen auf Stärkeplatten 23

E. Zusammenfassung 24

F. Schrifttum 25

A. Geschichte der Nährböden.

Die Kultur ist ein ebenso wichtiges Hilfsmittel für die bakteriologische Diagnostik wie der mikroskopische Nachweis der Bakterien und der Tierversuch. Sie allein gibt Aufschluß über die Lebensbedingungen der Kleinlebewesen. „Besonders wenn, wie das ja meist der Fall ist, bakteriologisches Untersuchungsmaterial aus einem Gemisch verschiedener Bakterienarten besteht, ist Züchtung auf künstlichem Nährboden notwendig. Die genaue Bestimmung einer Bakterienart läßt sich mit Sicherheit nur erreichen, wenn man sie von ihrem künstlichen Nährboden in Reinkultur darstellt" (Gildemeister) [1].

1. Bakteriologische Untersuchungsmethoden vor Robert Koch.

Schon vor Robert Koch wurden mehrfach Versuche unternommen, Reinkulturen zu gewinnen. Die angewandten Verfahren waren aber sehr umständlich und die erzielten Ergebnisse nicht zuverlässig. Eine weitere Anwendung in der Praxis schloß sich somit von vornherein aus. Ferdinand Cohn [34] (zitierte nach Lubinski [33]) versuchte durch immer weitere Überimpfung in neue Nährmedien Reinkulturen zu erzielen. Er ging dabei von der Annahme aus, daß die einen Baktienarten die anderen „im Kampf ums Dasein" überwucherten. So wurde zwar eine Reinzüchtung erreicht, es war aber vom Zufall abhängig, welche Art von Bakterien aus dem Gemisch isoliert wurde.

Eine gewisse Verbesserung bedeutete das von Miquel [2] angewandte Prinzip der stärksten Verdünnung des bakterienhaltigen Substrates. Er stellte abgestufte Verdünnungen her. Die stärkste Verdünnung, bei der Bakterienwachstum auftrat, galt als Reinkultur, in der Annahme, daß in ihr nur ein Keim vorhanden war. Brefeld [3]) verdünnte das Material mit Wasser soweit, bis in einem Tropfen bei mikroskopischer Kontrolle nur ein Keim zu finden war.

Feste Nährböden zur Züchtung von Bakterien verwendete unbewußt bereits 1819 der italienische Arzt Dr. Sette [4], Distriktsarzt von Piove, gelegentlich eines Massenauftretens von Bac. prodigiosus auf Nahrungsmitteln. Er hielt diese Bakterien für Pilze und überimpfte sie auf Polenta, später auch auf Fisch, Fleisch, Brot und anderes. 1848, also fast 30 Jahre später, machte Ehrenberg [5]) anläßlich einer kleinen Hausepidemie ähnliche Versuche. Er über-

trug den von ihm Monas prodigiosus benannten Keim auf gekochte Kartoffeln, die auf feuchtes Papier in einer Blechbüchse gelegt waren. Ebenso verwendete er Weißbrot und Schweizerkäse als Nährboden. Alle auf diese Arten erzielten Reinkulturen waren aber immer Zufallsprodukte. Man war nicht in der Lage, die einzelnen Bestandteile eines Bakteriengemisches zu isolieren..

2. Das Plattenkulturverfahren von Robert Koch.

Während der Jahre 1881—1883 arbeitete Robert Koch das Gelatineplattenverfahren aus. Mit der Herstellung dieser Platten gelang es ihm erstmalig, feste und durchsichtige Nährböden zu schaffen, mit denen man Bakterienarten planmäßig isolieren und reinzüchten konnte. Robert Koch ging von der Voraussetzung aus, daß Keime, die an voneinander getrennten Stellen eines Nährbodens gelangen, an diesen Stellen sich auch zu einzelnen Kolonien entwickeln würden. Ursprünglich brachte er Gelatine auf einem sterilisierten Objektträger zur Erstarrung. Mit einer feinen Nadel strich er etwas von dem zu untersuchenden keimhaltigen Material über die Gelatinefläche aus. So wurde von ihm eine Verdünnung erzielt, die in den letzten Strichen getrennt Einzelkolonien ergab. Die beimpften Objektträger wurden in feuchte Kammern gebracht, um Austrocknung, sowie Verunreinigung durch Luftkeime zu vermeiden. Später verwendete Robert Koch zum Erstarren verflüssigter Gelatine Glasplatten von 9 mal 12 cm, die er vorher in Blechbüchsen sterilisiert hatte. Aus dieser Zeit stammt die heute noch übliche Bezeichnung „Platten", obwohl längst allein noch Doppelschalen Verwendung finden, wie sie Petri und Drigalski erstmalig für bakteriologische Zwecke gebraucht haben. Robert Koch brachte zwar bei Entwicklung seines Verfahrens Methoden zur Anwendung, die teilweise bereits von anderen Forschern geübt waren. Von grundlegender Bedeutung für die moderne Bakteriologie wurden alle diese Maßregeln aber erst dadurch, daß sie Robert Koch zweckmäßig zu einer Kulturmethode vereinigte.

1882 gab Robert Koch auf Grund einer Anregung von Frau Angelina Hesse, Ehefrau seines Mitarbeiters Dr. Hesse, die ihre Jugend in Südamerika verbracht und dort die Verwendbarkeit des Agars als Ersatz für Gelatine kennen gelernt hatte, die gute Brauchbarkeit dieser Droge als Grundlage für feste Nährböden bekannt. Agar ist kein Eiweißstoff, wie die Gelatine, sondern ein aus pyranoiden Galaktoseresten bestehendes Polysaccharid, das daher keinem Angriff durch eiweißspaltende Fermente ausgesetzt ist. Sein hoher Schmelzpunkt macht vor allem auch die Bebrütung bei 37° möglich. Seit dieser Zeit ist Agar das unübertroffene und in der Praxis fast ausschließlich verwendete gelierende Agens für alle in der Bakteriologie gebräuchlichen Nährböden geblieben.

3. Regenerierung von Agar, ein Versuch, dem im Weltkrieg eingetretenen Agarmangel zu steuern.

Im Weltkrieg und der ersten Zeit nach dem Kriege machte sich ein Mangel an Agar unangenehm bemerkbar. Einmal stieß durch die Blockade der Feindmächte die Beschaffung von Rohagar auf sehr große Schwierigkeiten, zum anderen wuchs gerade in dieser Zeit der Verbrauch ums Vielfache. Dieser Notlage versuchte man dadurch abzuhelfen, daß man durch Regenerierung aus gebrauchten Nährböden, neue gebrauchsfähige herstellte. Nach Attz und Hettche[7]) bzw. Gildemeister[6]) sind folgende Anforderungen an ein Regenerationsverfahren zu stellen:

Entfernung der auf dem Nährboden gewachsenen Kulturen, sowie Ausmerzung der Stoffwechselprodukte der Bakterien. Die verlorengegangenen Nährstoffe müssen wieder ersetzt werden. Bei Spezialnährböden müssen die Zucker und Indikatoren entfernt werden, damit nicht deren Reste oder Umsetzungsprodukte das Wachstum stören. Überdies muß die Erstarrungsfähigkeit des Agars noch groß genug sein.

Bei der Regenerierung der Agarnährböden berechnet man die ursprüngliche Menge der zu regenerierenden Agarmasse, die einen Teil ihres Wassergehaltes durch Austrocknung verloren hat, und setzt dem Nährboden, der aus den Platten geschabt und dann in einen offenen Topf getan wird, entsprechend viel Aq. dest. zu. Nach 30 Minuten langem Kochen im Autoklaven werden pro Liter 20 g Tierkohle zugesetzt, die die Bakterien absorbiert und so eine teilweise Klärung bewirkt. Nach weiterem 20 bis 30 Minuten langem Kochen im Dampftopf wird heiß filtriert und pro Liter 6 bis 7 g Pepton und die gleiche Menge Fleischextrakt zugesetzt und nochmals kurz aufgekocht. Nun erfolgt die pH-Einstellung. Falls es sich als notwendig erweist, kann eine Klärung durch Zusatz von Rinderserum oder Hühnereiweiß erfolgen. Die weitere Behandlung entspricht der des Frischagars. Drigalski- und Conradi-Agar werden wie gewöhnlicher Agar regeneriert. Bei der Regenerierung von Endoagar nach Stößner wird 1 kg gebrauchte Nährbodenmasse mit 50 g Tierkohle gekocht. Nach Abkühlung auf 40 bis 50° wird ca. 50 ccm defibriniertes Rinderblut zugesetzt und durchgemischt. Nach weiterem 40 Minuten langem Kochen erfolgt Filtration und Zusatz von 300 ccm aus Fleischextrakt bereiteter Bouillon.

In der späteren Nachkriegszeit ist man von diesen und anderen Verfahren, die über den Mangel an Agar hinweghelfen sollten, wieder abgekommen, da eine zwingende Notwendigkeit zu ihrer Anwendung nicht mehr vorlag. Es fanden auch keine weiteren Versuche statt, Ersatzmittel für Agar zu schaffen. In dieser Zeit urteilt Gildemeister[1]): „Die hinter uns liegende Kriegszeit hat gelehrt, daß Nöte in der Ernährung des Menschen auch Nöte in der Ernährung der Bakterien bedingen. Ebenso wie wir uns für unsere eigene Ernährung vielfach mit mehr oder weniger schlechten Ersatzpräparaten begnügen mußten, mußten wir auch für die Ernährung der Bakterien im Laboratorium nach Ersatzpräparaten Umschau halten, oft auch hier nicht zum Vorteil für die

damit Ernährten. Die Literatur über derartige Ersatzpräparate für bakterielle Nährböden schwoll im Laufe des Krieges mehr und mehr an, sie nahm ab, als nach dem Kriege wieder normale Wirtschaftsverhältnisse eintraten. Und von der großen Schar der Ersatzpräparate, von denen viele von ihrem Entdecker als vollwertiger Ersatz der bisher gebräuchlichen Nährböden bezeichnet wurden, ohne es jedoch zu sein, sind heute nur wenige im Gebrauch. Sie waren ein Ersatz, solange wir unseren Bakterien nicht bessere Nahrung bieten konnten." Erst seit 1937 finden sich in der Literatur wieder häufiger Berichte über Versuche, für die Nährböden neue billige, im Inland in ausreichendem Maße zur Verfügung stehende Ersatzmittel zu erproben.

4. Sojabohnen und Süßlupinenmehl als Ersatz für Fleischbrühe in Nährböden.

Über Wege, Fleischbrühe in den Nährböden zu ersetzen, berichtete 1938 Brandt[8]). Er stellte Versuche mit dem von Kausch und Weiß für derartige Zwecke empfohlenen Sojabohnenmehl, sowie mit Süßlupinenmehl an und kam zu dem Ergebnis, daß diese Produkte bei der Herstellung von Nährböden für bakteriologische Zwecke als vollkommener Ersatz für Fleisch gelten können. Ein Peptonzusatz ist bei dem Süßlupinenmehlnährboden nicht erforderlich. Das Bakterienwachstum auf ihm ist ohne Peptonzusatz nicht gehemmt. Durch Verwendung von Sojabohnen- oder Süßlupinenmehl anstatt von Fleischbrühe läßt sich eine nicht unwesentliche Verringerung der Herstellungskosten bei der Nährbodenbereitung erzielen.

H. O. Hettche und W. Zischg[9]) beschrieben die Herstellung eines Nährbodens aus Edelsojabohnenmehl, bei dem das Nährmaterial in höherem Maße ausgenutzt wird. Diese weitergehende Ausnutzung wurde durch vorherige Verdauung des Edelsojamehls mit Pankreatin erreicht. Bakterien, die in Fleischwassernährböden nur ein mäßiges oder gar kein Wachstum aufwiesen, wie z. B. Diphteriebazillen, Pneumokokken, Streptokokken, Meningokokken, Bangbazillen u. a. gediehen auf dem beschriebenen Nährboden in ausgezeichneter Weise.

In den seit 1937 von Hettche und Münch veröffentlichten Arbeiten über Kieselsäurenährboden ([8]—[13]) wurde die Verwendung von Cenovis-Hefeextrakt in Austausch der sonst bei Nährböden allgemein gebrauchte Nährbouillon vorgeschlagen.

5. Anorganische Stoffe als Ersatz für Agar.

Anorganische Kolloide im Gelzustand sind schon seit Jahrzehnten im Gebrauch. Schwarz[10]) beschreibt unter „Methoden zum Nachweis von Bodenorganismen" die Herstellung von Kiesel-

säuregallertnährböden aus Kaliwasserglas und Salzsäure. Danach sind Kieselsäureplatten zuerst 1890 von W. Kühne[11]), 1891 von P. Sleskin[12]), von Winogradsky[13]) (1891, 1925, 1926) und von Bojanowsky[14]) (1926) zum Studium von nitrifizierenden Bodenbakterien benutzt worden. Das Verfahren war reichlich umständlich, da das im Sauren gebildete Gel erst gewaschen werden mußte, ehe die Nährflüssigkeit absorbiert wurde. Wahl[15]) bildete das Gel im Nährmedium selber, indem er nacheinander 8—9 % Natriumsilikat und Salzsäure bis zu pH 7·3 hinzufügte. Er stellte auf diese Weise sowohl Röhrchen als auch Platten her und entfernte das reichliche Quetschwasser mit einer Pipette. Die erhaltene Masse wird als durchsichtig, homogen, vibrierend, in der Konsistenz geringer als Agar beschrieben. Es gediehen Staphylokokken, Typhusbazillen, Shiga-Ruhrbazillen, Choleravibrionen, Heubazillen und B. megatherium. Wahl benutzte den Nährboden zum Bakteriophagenstudium. Kieselsäuregele als Nährboden wurden ferner von Hanks und Weintraub[16]) (1937) sowie von Batchelor und Wilson[17]) (1938) empfohlen. Über die Herstellung agarfreier Nährböden durch Verwendung kolloidaler Kieselsäure berichteten Hettche[18]) und Münch.

Durch dosierten Zusatz von Säure bis zum optimalen Wachstums-pH wird die Kieselsäure aus ihren Natriumsalzen frei, sodaß die übliche phosphatgepufferte Nährbrühe geliert. Es sollen befriedigende Züchtungsergebnisse mit Staphylokokken, Diphtheriebakterien, Bakt. coli, sowie Typhus-, Paratyphus B-, Breslau — und anderen Bakterien erzielt worden sein. Noch im gleichen Jahre 1937 veröffentlichten dann Hettche und Münch gemeinsam eine Arbeit über „Die Verwendung von Kieselsäurenährböden bei der bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Abwasser.“ [20])

Zur phosphatgepufferten Nährbrühe wird etwa 8 % Wasserglas gegeben, aus dem durch Zusatz von 25 prozentiger Phosphorsäure bis zum pH = 7,5 Kieselsäure (SiO_2) freigemacht wird, die schnell zu einem festen glasartig spröden Gel erstarrt. Zur Entfernung des reichlichen Quetschwassers dienen mit Calciumchlorid getränkte Bierfilzeinlagen. Als Nährmedium wird, wie bereits erwähnt, Cenovis-Hefeextrakt vorgeschlagen, da nur hiermit klare durchsichtige Platten erzielt werden sollen. Als Nachteile des Agars werden die inkonstante Qualität, d. h. die bei den einzelnen Agarsorten sehr unterschiedliche Gelierfähigkeit und Löslichkeit angeführt, während die Kieselsäuregallerte als Industrieprodukte stets einheitlich zusammengesetzt sei. Das viel Zeit erfordernde Auflösen und Filtrieren des Agars kommt bei der angegebenen Methode in Fortfall, desgleichen die Fehlerquelle, die durch die hohen Temperaturen des flüssigen Agars bei der Keimzahlbestimmung gegeben ist. Die Zahl der im Wasser ermittelten Keime liegt bei diesen Nährböden in der Mitte zwischen Gelatine- und Agarkeimzahl.

Zimmermann[29]) veröffentlichte seine Ergebnisse bei der Verwendung von Kieselsäurenährböden im Plattenkulturverfahren,

allerdings unter Verwendung von Liebigs Fleischextrakt statt Cenovis-Hefeextrakt. Das Wachstum von Staph. aur. häm., Microc. catarrhalis, Bac. pneum. Friedländer, Bac. pyocyaneus, Bac. coli, Typhus-, Paratyphus-, Milzbrand- und Heubazillen war gut, von Streptokokken mäßig. Sarzinen, Bac. fäcalis, Diphterie- und Pseudodiphteriebazillen wuchsen nicht. Die Platten waren feucht und weich, sodaß Einzelkolonien schlecht zu erhalten waren. Bei vergleichenden Keimzahlbestimungen mit Kieselsäureplatten ohne Bromthymolblauzusatz und den üblichen Gelatineplatten wurden von Zimmermann (persönliche Mitteilung) auf Kieselsäureplatten 70 % der auf Gelatine gefundenen Keime gezählt. Der Vorteil der Kieselsäureplatte war, daß sie im Sommer sofort steif wurde und daß keine Verflüssigung durch peptonisierende Fermente eintrat.

Hettche berichtete 1939 nochmals über Erfahrungen mit Kieselsäurenährböden [22]). Peptonzusatz zur Förderung des Wachstums sei nicht erforderlich, denn man könne den gleichen Effekt erzielen durch Zusatz von 0,05 % Natriumsulfit. Die Kieselsäureplatten seien auch für die Anaerobenzüchtung geeignet. Ein anderes Verwendungsgebiet sei die bakteriologische Milchuntersuchung.

Bei der Keimzahlbestimmung muß der Sulfitzusatz unterbleiben, da die Kolonien sonst zu klein wachsen. Dafür nimmt man 0,5 % Pepton und 0,1—0,2 ccm Cenovis-Hefeextrakt. Für die Stuhluntersuchung werden zu 78 ccm Hefeextraktbrühe, die schon die entsprechende Menge Phosphorsäure enthält, 10 ccm 20%ig. Milchzucker, 1 ccm 1%ige Bromthymolblau und 8 ccm Wasserglas (techn.) zugesetzt. In Petrischalen wird 15—20 ccm Nährboden abgefüllt. Das Gel braucht gewisse Zeit bis zur Beimpfbarkeit.

Genaue praktische Anweisungen für die Herstellung von Kieselsäurenährböden für Stuhluntersuchungen erfolgten erst später von Hettche und Münch (23). Es wird die Herstellung eines „Ausgangsextraktes", der aus einer konzentrierten Lösung besteht, vorgeschlagen. Zu in heißem Wasser aufgelöstem, im Dampftopf filtrierten und auf eine bestimmte Menge mit Wasser aufgefülltem Cenovis-Hefeetrakt wird die zugehörige Menge Phosphorsäure bestimmt, indem man zu einer Probe der bereiteten Brühe alkoholische Thymolblaulösung zusetzt und mit Phosphorsäure nach blau-grün titriert. Ein entsprechendes Vielfaches der so ermittelten Phosphorsäure wird nun der Brühe zugesetzt und diese dann auf eine bestimmte Menge mit Wasser verdünnt. Dieser Ausgangsextrakt liefert fast die 6,7-fache Menge an Nährboden und ist autosteril. Zur Herstellung des Nährbodens wird der Ausgangsextrakt in bestimmtem Verhältnis mit sterilem Wasser verdünnt und zu dieser „sauren Brühe" Milchzucker, Bromthymolblau, Wasserglas, wässriges Alizarincyaningrün (I. G. Farben) unter Einhaltung bestimmter Mengenverhältnisse zugesetzt. Der Nährboden erstarrt in 6 Minuten nach Wasserglaszugabe, Trocknung erfolgt durch Einlagen von Bierfilzen nach dem Erstarren. Vermeidet man die Verwendung von Filzen, so trocknet man die Platten offen 7 bis 8 Stunden im Brutschrank oder man gießt sie besser am Vortage und bewahrt sie im Eisschrank auf, gießt dann am folgenden Tage das Quetschwasser ab und trocknet 3 bis 4 Stunden im Brutschrank. Zur Beimpfung eignen sich wegen der spröderen Beschaffenheit des Kieselsäuregels verschmolzene Platinösen von 4 bis 5 mm Durchmesser. Ersatzmetalle geben durch Oxydbildung leicht Anlaß zur Kratzerbildung.

Die Ablesung der beimpften Platten ist schon nach 15stündiger

Bebrütung möglich. Die Koloniebilder von B.coli, B.typhi, B.paratyphi B, B. enteritidis Breslau, B. enteritidis Gärtner, Shiga Kruse-, Flexner- und E-Ruhrbaz. und von Bact. Proteus werden beschrieben. Letzterer schwärmt nicht. Der Agglutinationstiter zeigt fast gleiches Verhalten wie auf Agar.

Zum Vergleich von Kieselsäure- und Agarnährböden wurden 135 Stuhlproben in 7 Wochen untersucht. Es wurden auf beiden Nährböden gefunden:

4 · Typhusbaz., 4 · Breslaubaz., 1 · Ruhrbaz. u. 1 ; E-Ruhrbaz.

Auf Kieselsäurenährboden wurden vermißt:

2 · Typhusbaz. (zu Beginn), 1 · E-Ruhrbaz., 1 : Breslaubaz.

Aus Agar wuchs nur ein Flexner-Stamm nicht.

G. Brunner[24]) bestätigte die von Hettche und Münch angegebenen Vorzüge der Kieselsäurenährböden aus eigenen praktischen Erfahrungen bei Wasseruntersuchungen. Es wurden die außerordentliche Klarheit, sowie das Ausbleiben jeder störenden Verflüssigung hervorgehoben. Das Wachstum der Wasserkeime bei Agar : „Kiebo" : Gelatine verhielt sich wie 1 : 2 : 3. Der Natriumsulfitzusatz verbesserte den Kieselsäurenährboden so, daß die „Kiebo"-Keimzahl gleich der Gelatinekeimzahl wurde.

6. Organische Stoffe als Ersatz für Agar.

Auch aus dem Gebiete der organischen Chemie wurde eine Reihe als Ersatz für Agar geeignet erscheinender Stoffe erprobt.

So demonstrierte Schütz[25]) 1937 auf der Tagung der deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin Polyvinylalkohol als Ersatzmittel für Agar. Dieser wird in kochender Bouillon gelöst. Die Flüssigkeit erstarrt beim Erkalten zu einem festen Nährboden. Da die Masse aber dann noch zu weich ist, fügte er Kongorot hinzu, das die Temperatur der Gelbildung heraufsetzt. Nachteilig ist die rote Farbe. Typhusbaz., Colibaz., Staph. aureus und Heubakterien wuchsen gut. Nach Zimmermann[26]) kann man auch ohne Kongorotzusatz farblose Platten erhalten, wenn man hohe Polyvinylalkoholkonzentrationen anwendet, doch ist das Wachstum gehemmt.

Auf der gleichen Tagung berichtete Wohlfeil[27]) über Versuche mit pektinhaltigen Stoffen. Er fand Carrageen (irländisches Moos) geeignet; schon das seltene Vorkommen schließt jedoch eine weiterreichende Verwendung aus. Versuche mit Laminaria digitata ergaben unlösliche Calciumpektinat- bzw. Alginat-

nährböden. Das wirksame Prinzip ist der Schleimstoff Fucoidin, der dem Agar ähnelt. Versuche mit Apfelpektin blieben ohne Erfolg.

Funck[28]) züchtete Aspergillus niger auf pektinhaltigen Nährboden. Er hält deswegen auch Pektin für bakteriologische Zwecke geeignet. Seine Versuche sind mangels genauer Angaben nicht reproduzierbar. Außerdem kann man nicht ohne weiteres vom Wachstum von Pilzen auf das von Bakterien schließen.

Über Untersuchungen weiterer Stoffe aus der gleichen Gruppe berichtete Zimmermann[26]). Bei Verwendung von Gelatine als Ausgangsmaterial gelang es wohl, diese so zu härten, daß sie bei Körpertemperatur fest bleibt, wenn man z. B. der 5 %igen Lösung 0,3 % Formol, der 10 %igen Lösung 2 % Hexamethylentetramin oder 10 % Acetaldehyd zusetzt. Doch gelang es nicht, dieses Material zu entgiften. Gemische von 20 % Gelatine mit 40 % Glyzerin blieben nach Beimpfung steril.

Da nach Angaben von Galloway und Dusseau Pilzkulturen auf Zellophanfolien, d. i. Cellulosehydrat, kultiviert werden können, untersuchte Zimmermann Cellulose derivate. Die geprüften Tylosen gelierten nicht, quollen nur sehr stark. Es gelang aber, dickflüssige Lösungen herzustellen, die man in Petrischalen gießen konnte, und die dann darin erstarrten. Die Herstellung war umständlich und verbot Verwendung in Massenbetrieb.

Stärke ist bisher schon öfters in der Nährbodentechnik verwendet worden. Erinnert sei nur an die Kartoffelscheibe, die sogar der Vorläufer unseres heutigen Plattenverfahrens ist. Jedoch als gelierendes Prinzip wurden Stärkeprodukte erstmalig von Zimmermann[29]) angegeben. Er beschrieb die Herstellung fester Nährböden auf Stärkegrundlage als Austausch für Agar-Agar und teilte gleichzeitig die Wachstumsergebnisse bei Laboratoriumsstämmen von fast 50 verschiedenen Bakterienarten mit.

Als Ausgangsmaterial waren alle stärkehaltigen Produkte, wie Kartoffel- und Maismehl, Reisstärke und Sago verwendbar. Durch Verkleisterung der Stärke erhielt Zimmermann feste Nährböden, die geeignet erschienen, Agarnährböden zu ersetzen.

Zu Maismehl (Maispuder, Maizena, Mondamin und ähnl. Produkte) wird nach in Vorversuchen ermitteltem Mengenverhältnis das Nährmedium (Peptonwasser, gewöhnliche oder Phosphatbouillon, Traubenzuckerbouillon) zugesetzt und unter dauerndem Rühren die ganze Masse erhitzt, bis bei 75 bis 80 Grad die Verkleisterung eintritt, die sich durch Konsistenzwechsel und Durchscheinendwerden der Masse bemerkbar macht. Diese wird dann in gewohnter Weise in Petrischalen gegossen.

Bei der Diagnose aus den Kolonieformen, die sich weniger gut als von Agar abhoben, mußte sich Zimmermann umstellen; das mikroskopische Bild glich dem gewohnten. Die Kosten waren erheblich niedriger als bei der Herstellung von Agarplatten.

Tabelle 1.

Übersicht über Kohlehydrate als Verfestigungsmittel.
(Entnommen Zbl. f. Bakter. I. Orig. **144**)

Stoff	Gerüst	Begleitstoffe	Baustein
Agar-Agar	Kette aus pyranoiden Galaktoseresten Verknüpfung in 1,3	Schwefelsäureester Ketose Uronsäure	CHO HCOH HOCH HOCH HCOH H_2COH Galaktose
Fucoidin	Kette aus Galaktomethyloseschwefelsäureester (Fukose)		CHO HCOH HOCH HOCH HCOH CH_3 Fukose
Pektin	Kette aus pyranoiden Galakturonsäureestern Verknüpfung in 1,4	z. T. verestert Pentosane	CHO HCOH HOCH HOCH HCOH COOH Galakturonsäure
Cellulose	Kette aus pyranoiden Glukoseresten Verknüpfung in 1,4		CHO HCOH HOCH HCOH HCOH H_2COH Glukose
Stärke	Kugel aus pyranoiden Glukoseresten Verknüpfung in 1,4	Amylopektin (Phosphorsäureester)	Glukose

B. Eigene praktische Erfahrungen über die Herstellung fester Nährböden auf Stärkegrundlage.

Aufgabe des Verfassers war es, die von Zimmermann angegebene Stärkeplatte erstmalig im laufenden Betrieb der Untersuchungsabteilung des Hygienischen Instituts der Universität Breslau zu erproben. Bei der Plattenherstellung wurde als Stärkegrundlage von vornherein ausschließlich die am geeignetsten erscheinende Maisstärke verwendet. Als praktisch hat sich dabei der im Handel erhältliche Maispuder erwiesen, da man das Zerstampfen, wie es bei dem Maismehl in Stücken notwendig ist, einspart.

1. Die Sterilisierung der Maisstärke.

Zimmermann hat schon darauf aufmerksam gemacht, daß auf eine sorgfältige Sterilisierung des Maispuders ganz besonders großer Wert zu legen ist; die allen Stärke- und Mehlarten anhaftenden sporenbildenden äußerst widerstandsfähigen Keime aus der Gruppe der Heubazillen wachsen später aus, überwuchern dabei alle anderen Kolonien und verflüssigen den Nährboden.

Eine zu lange währende Sterilisation sowie das Erhitzen auf zu hohe Temperatur bewirkt allerdings Dextrinbildung, die sich durch gelbliche Verfärbung der Stärke kundtut. Solche mit Dextrin untermischte Stärke ist in ihrer späteren Gelierung sehr stark beeinträchtigt. Es ist eine bedeutend größere Stärkemehlkonzentration bei der Plattenherstellung dabei erforderlich. Eine sichere Berechnung der Mengenverhältnisse zur Plattenherstellung ist dann nicht möglich. Man erhält leicht in ihrer Konsistenz nicht einwandfreie Platten.

Zur Sterilisation bereitet man am zweckmäßigsten je 55 g Maispuder in sterilen Drigalskischalen in dünner Schicht aus und stapelt diese im Trockenschrank in der Art auf, daß zwischen jede Schale der Deckel einer Petrischale gesetzt wird, sodaß die Luft dazwischen durchstreichen kann. Die beiden untersten Schalen eines Stapels läßt man leer, da sie sich zu hoch erhitzen. Sichere Keimfreiheit und eine praktisch nicht ins Gewicht fallende sehr geringe Bildung von Dextrinen erhält man durch $2^1/_2$stündiger Sterilisation bei einer Temperatur von 130° bis 145°. Bis zur weiteren Verwendung wird der sterilisierte Maispuder in den Drigalskischalen aufbewahrt. Da ein Gewichtsverlust von 10 % bei der Sterilisation eintritt, enthält jede Drigalskischale 50 g sterilen Maispuder.

2. Herstellung von Endoplatten.

Zuerst soll auf die Herstellung von Stärkeplatten, wie sie für die Untersuchung von Darmbakterien Verwendung finden, eingegangen werden, da diese für den sich neu in die Materie Einarbeitenden am wenigsten praktische Schwierigkeiten bereiten.

In einem reichlich 1 Liter Flüssigkeit fassenden, mit Henkel, Gießansatz und Deckel versehenen sterilen Aluminiumtopf wiegt man 117 g sterilisierten Maispuder ab und rührt in einem kleinen Teil von 1 Liter bereitgestellter einfacher Bouillon mit einem pH von 7,5 unter Verwendung eines sterilen Glasstabes kalt an. Dazu gibt man 10 g, in 50 ccm Aq. dest. kurz aufgekochten Milchzucker. Die übrige Bouillon bringt man in dem Literkolben, in denen man diese sich am zweckmäßigsten immer abgefüllt vorrätig hält, zum Kochen. Die siedende Bouillon wird unter fortwährendem gleichmäßigen Umrühren dem Stärkebrei zugesetzt und kurz aufgekocht. Durch das Erhitzen des größten Teiles der Bouillon für sich allein spart man einen guten Teil des sehr zeitraubenden Umrührens ein. Der frisch verkleisterten Maispuderbouillon setzt man 2 ccm gesättigte alkoholische Fuchsinlösung unter Umrühren zu und entfärbt mit 35 ccm 15 % Natriumsulfitlösung. Das Ausgießen der Masse in Schalen schließt sich an. Es lassen sich aus einem Liter Bouillon etwa 70 Platten gießen. Die Platten sind dünn zu gießen, da bei dicker Schicht das Wachstum nicht besser wird, wohl aber die Kolonien zu feucht werden und bei dünnen Stärkeplatten das Ablesen nach Beimpfung und Bebrütung bequemer ist. Die bei den angegebenen Mengenverhältnissen verwendete Stärkekonzentration von 10,7 % hat sich als optimal für Endo-, sowie für die noch zu beschreibenden Brillantgrünplatten herausgestellt. Bei guter Gießbarkeit erhält man Platten von fester Konsistenz und glatter Oberfläche. Es tritt nur geringfügige Bildung kleiner Luftbläschen auf, die nicht wesentlich störend wirkt. Die Ausstreichbarkeit ist gut. Die Platten sind durchscheinend bis etwas durchsichtig. Die Farbe der Endoplatten ist weiß, wenn man den für Agarplatten vorgeschriebenen Fuchsinzusatz von 3,5 ccm pro Liter auf 2 ccm herabsetzt. Um die gelegentlich etwas zähflüssige Masse in den Schalen gleichmäßig zu verteilen, werden die Platten am besten nach dem Gießen einzelnen in die Hand genommen und unter geringem seitlichen Kanten gedreht. Nach kurzer Zeit ist der Nährboden erstarrt und die Platten können umgedreht werden, sodaß der niedergeschlagene Wasserdampf im nach unten gekehrten Deckel zusammenfließen und bald darauf abgegossen werden kann. Die frisch gegossenen Endoplatten sind wie auch alle anderen Stärkeplatten sofort ausstreichbar. Jedoch gleitet die Öse nicht so glatt über die Oberfläche, wie bei 24 Stunden alten oder vor noch längerer Zeit hergestellten Platten. Sie klebt etwas am Nährboden. Nachteilig ist auch, daß bei kurz nach dem Gießen beimpften Platten die Kolonien feuchter und weniger scharf begrenzt wachsen, z. T. meinanderfließen, wie das bei Agar auch der Fall ist. Endoplatten halten sich unbeimpft, in nicht zu warmen Raume dunkel aufbewahrt, 5—6 Tage, im Eisschrank noch erheblich

länger. Zur Beimpfung der Stärkeplatten sind Platinösen nicht unbedingt notwendig, Ersatzmetalle hierfür können wie bei Agarplatten Verwendung finden. Bewährt haben sich breite Ösen mit einem Durchmesser von ungefähr 4 mm.

3. Herstellungvon Brillantgrünplatten.

Zur Verwendung kamen Brillantgrünplatten nach Kauffmann, modifiziert von Schindler ([31] und [32]) auf pH = 6,7 bis 6,9. In der oben beschriebenen Weise wird 117 g Maispuder mit 1 Liter schwachsaurer Bouillon mit einem pH = 6,7 bis 6,8 verkleistert, nachdem man vorher 15 g Milchzucker, der in 50 ccm Aq. dest. kurz aufgekocht ist, zugesetzt hat. Unter Umrühren setzt man 40 ccm 0,2 %iger Phenolrotlösung und 1,5 ccm 0,5 %iger Brillantgrünlösung zu und gießt nun die fertige Nährbodenmasse in Petrischalen. Die Farbe der Platten ist bei richtiger pH-Einstellung olivgrün. Aus der angegebenen Menge lassen sich auch hir etwa 70 Platten gießen. Die Haltbarkeit der Brillantgrünplatten ist sehr groß. Nach 14 Tagen und länger sind die Platten bei Aufbewahrung in nicht zu warmen Raume noch verwendbar.

Ein ganz anderer Weg, zu bequem gießbaren und den Agarplatten an fester Konsistenz, glatter Oberfläche und klarer Beschaffenheit nicht nachstehenden Stärkeplatten zu gelangen, erwies sich leider als nicht durchführbar. Es wurde nämlich der Versuch unternommen, Brillantgrünplatten mit einer Maisstärkekonzentration von 9,5 %, die sehr gut und dünn gießbar sind und sehr geringe Luftblasenbildung und gute Durchsichtigkeit aufweisen, sowie eine glatte glänzende Oberfläche haben, aber von sehr weicher Konsistenz sind, sodaß ein Ausstreichen mit Platinöse kaum möglich ist, 12 bis 24 Stunden im Brutschrank offen zu trocknen. Durch den Flüssigkeitsverlust bekommen die Platten eine feste Konsistenz und die Ausstreichbarkeit wird sehr gut. Sie bleiben aber nach Beimpfung steril, da die Oberfläche zu trocken wird.

Herstellung von Blutplatten.

In sterilen Glaskölbchen wird kalt angerührter Maispuder durch Zugießen kochender einfacher oder Traubenzuckerbouillon und durch kurzes weiteres Aufkochen unter stetigem Umrühren mit sterilem Glasstab verkleistert. Die Masse wird durch Einstellen des Kolbens in eine Schüssel mit kaltem Wasser und durch Umrühren mit einem Thermometer auf 50 ° abgekühlt. Dann setzt man 6 % defibriniertes steriles Blut zu. 10 %ige Stärkemehlkonzentration hat sich als am günstigsten für die Herstellung

von Blutplatten herausgestellt. Höhere Konzentrationen erschweren die Gießbarkeit, auch läßt sich Klumpen- und Luftblasenbildung schwieriger vermeiden. Bei niedriger Konzentration ist die Konsistenz der Platten zu weich. Die genaue Temperaturkontrolle bei der Abkühlung auf 50° ist recht zweckmäßig, da bei Blutzusatz bei nur wenig höherer Temperatur die Platten, wenn auch nicht gleich, so doch nach Bebrütung sich braun verfärben. Die Hämolyse ist dann nicht mehr nachweisbar. Bei stärkerer Abkühlung wird die bei 50° bereits zähflüssige Nährbodenmasse sehr leicht im Kolben zu fest und läßt sich nicht mehr zu Platten gießen. Die Blutstärkeplatten sind hellrot und unterscheiden sich äußerlich nicht von Blutagarplatten. Die Konsistenz ist etwas weicher. Herstellung größerer Mengen als 300 ccm in einem Ansatz ist nicht zweckmäßig, da nach Abkühlung auf 50° der zähflüssige Nährböden, um Erstarrung im Kolben zu vermeiden, schnell in Schalen gegossen werden muß.

5. Herstellung von Kochblutplatten.

Bouillon wird mit 6% Blut gekocht und mit 9% kalt angerührtem Maispuder durch Zugießen und weiteres kurzes Aufkochen verkleistert. Dann wird die heiße mit Blutkoagula durchsetzte Nährbodenmasse in Platten gegossen. Die Platten ähneln äußerlich den Agarkochblutplatten. Da jedoch insbesondere das Wachstum der Influenzabazillen, wie später beschrieben, auf diesen Platten z. T. nicht befriedigend ist, stellt man sich besser Platten in der Art her, daß man frisch verkleisteter Maisstärkebouillon mit Pipette 6% Blut unter Umrühren zusetzt und die sich schokoladenbraun verfärbende Nährbodenmasse in Schalen gießt. Die Platten sind nicht so leicht gießbar und von weicher Konsistenz.

6. Hersellung von Aszitesplatten.

25 Teile Aszites werden mit 10 Teilen Stärke kalt angerührt und mit 75 Teilen kochender Bouillon verkleistert. Die so bereitete Nährbodenmasse kann entweder sofort in Schalen gegossen werden, oder man setzt nach Abkühlung auf 50° ½% frischen Aszites vor dem Gießen in Platten zu. Bei den eigenen Untersuchungen zeigten beide Plattensorten bei gleichartiger Beimpfung gleiches Wachstum, insbesondere auch gleiches Verhalten bei Meningokokken.

Alle Versuche, verkleisterten Maispuderbouillon nach Abkühlung auf etwa 50° mindestens 15 bis 20% frischen Aszites zuzusetzen, sind mißlungen. Um nach Zusatz von 20% Aszites Platten von nicht zu weicher Konsistenz zu erhalten, müßte man 13%ige Maispuderbouillon verkleistern. Bei dieser hohen Konzentration

ist aber Klumpen- und Luftblasenbildung so gut wie unvermeidbar und wird erst recht durch Zusatz von Aszites verschlimmert, auch wenn man diesen im Brutschrank vorgewärmt hat.

7. Die Aufbewahrung der Stärkeplatten.

Blut- und Kochblut-, sowie Aszitesplatten bewahrt man der längeren Haltbarkeit wegen im Kühlschrank auf. Dabei schwitzt der Nährboden reichlich Flüssigkeit aus. Vor der Beimpfung stellt man daher zweckmäßig die frisch aus dem Kühlschrank genommenen Platten aufgedeckt und mit der Öffnung nach unten etwas schräg gestellt zur Übertrocknung 10 bis 15 Minuten in den Brutschrank, ein Verfahren, das bisweilen auch bei Agarplatten Anwendung findet. Endoplatten werden ebenfalls so übertrocknet, wenn man sie im Kühlschrank aufbewahrt hatte. Bei zu langer Aufbewahrung im Kühlschrank schrumpft die Nährbodenmasse der Stärkeplatten durch Flüssigkeitsausschwitzung.

8. Herstellung von Stärkeschrägröhrchen.

10 %ige Maisstärkebouillon wird verkleistert. Mit der so hergestellten gußfertigen Nährbodenmasse werden einzeln mit Stopfen versehene sterile Reagenzgläschen beschickt. Bis zum völligen Erkalten der Mase lagert man die Röhrchen schräg. Die zähflüssige Masse fließt nur langsam bis auf den Boden des Glases. Es ist darauf zu achten, daß der obere Teil des Gläschens nur an der Seite, an der der Stärkebrei herunterfließen soll, mit der Nährbodenmasse in Berührung kommt. Die Stärkeschrägröhrchen sind 2 bis 3 Wochen haltbar. Nach längerer Aufbewahrung tritt Schrumpfung infolge Trocknung ein. Das Bakterienwachstum steht dem auf Agarschrägröhrchen nicht nach. U. a. wurden durch regelmäßiges Überimpfen Typhusbazillen monatelang weitergezüchtet. Das mikroskopische Bild und das agglutinatorische Verhalten änderte sich dabei nicht.

C. Das Wachstum von Laboratoriumsstämmen auf Stärkeplatten.

Das Verhalten von Laboratoriumsstämmen verschiedenster Bakterienarten auf Stärkeplatten hat, wie schon erwähnt, Zimmermann eingehend beschrieben.

Das Wachstum folgender Bakterienarten wurde von ihm untersucht:

Kokken: Staphylococcus albus, aureus und citreus, Sarzinen, hämolytische und nicht hämolytische Streptokokken, Streptococcus viridans, Streptococcus lacticus und Enterokokken, Pneumokokken, Gonokokken, Meningokokken und Micrococcos catarrhalis.

Hämoglobinophile Bakterien: B. pertussi.

Brucella-Gruppe: B. abortus Bang.

Kapselbakterien: B. pneumoniae Friedländer.

Coli-Typhus-Ruhr-Gruppe: B. typhi, B. paratyphi B (Schottmüller),

B. dysenteriae (B. Kruse-Sonne, Shiga-Kruse, Flexner- und Y-Ruhrbazillen), B. coli, B. faecalis alcaligenes.

Corynegruppe: B. diphtheriae Pseudodiphtheriebaz..
Säurefeste Bakterien: Smegmabazillen.
Farbstoffbildner: B. prodigiosus, B. pyocyaneus.
Sporenbildende Aerobier: Milzbrand- und Heubazillen.
Anaerobe Bazillen: B. tetani, B. botulinus, Rauschbrandbazillen, Gasbrandbazillen, B. saccharobutyricus amylobacter.

Proteusgruppe: B. vulgare.
Vibrionen: Choleraähnlicher Vibrio aus Stuhl (1916).
Hefe: Oidium albicans.

Vom Verfasser selbst wurden mehrere Stämme von Influenza-Bazillen auf Stärkekochblutplatten gezüchtet. Sie konnten viele Male überimpft werden. Kolonieform und mikroskopisches Bild entsprachen durchaus denen von Agarplatten. Damit ist eine wichtige Lücke in der Arbeit von Zimmermann ausgefüllt worden.

D. Prüfung der Stärkeplatte im praktischen Betrieb des Untersuchungsamtes.

1. Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung wurde derart getroffen, daß Verfasser vollständig unabhängig von den bakteriologischen Stationen arbeiten konnte. In einem besonderen Laboratorium wurde das Untersuchungsmaterial, sowie es auf den Stationen nicht mehr gebraucht wurde, auf Stärkeplatten verimpft. Dort erfolgte auch am nächsten Tage die Ablesung der beimpften und bebrüteten Stärkeplatten völlig unabhängig. Erst im Anschluß daran wurden die eigenen diagnostischen Ergebnisse mit denen der Untersuchungsstationen verglichen und die Wachstumsüppigkeit der Kolonien auf Agar- und Stärkeplatten im einzelnen beurteilt. Die Stärkeplatten waren insofern benachteiligt, als auf den Stationen langjährig erfahrene technische Assistentinnen arbeiteten, während Verfasser sich erst neu in die Materie einarbeiten mußte. Um Differenzen in den Ergebnissen infolge andersartiger oder unzulänglicher Technik im Beimpfen der Nährböden nach Möglichkeit zu vermeiden, arbeitete Verfasser solange auf der Typhusstation mit Agarplatten, bis Unterschiede in der Ausstreichtechnik nicht mehr in Erscheinung traten. Die Diagnosestellung bei den Kulturen bereitete dann keine wesentlichen Schwierigkeiten mehr.

2. Typhus-Station.

Das im Laufe des Tages eingehende Untersuchungsmaterial: Stuhl-, Urin-, und Bluteinsendungen, wurde am Nachmittag verarbeitet. Urinsedimente und Stuhlproben wurden auf Endoplatten ausgestrichen. Gleichzeitig wurden Proben in Röhrchen mit

Kauffmann'scher Anreicherungsbouillon gegeben. Platten und Anreicherungen wurden darauf bis zum nächsten Vormittag bebrütet, an welchem das Ablesen der Platten erfolgte. Von den bebrüteten Anreicherungen wurden Proben auf Endo- und Brillantgrünplatten ausgestrichen und weitere 24 Std. bebrütet. Von den verdächtigen Kolonien wurden Probeagglutinationen gemacht, bunte Reihen angelegt und u. U. Gruber-Widalsche Reaktionen angesetzt. Von den Bluteinsendungen wurde der Blutkuchen zwecks Anreicherung in Röhrchen mit Galle getan und nach Bebrütung ebenfalls Proben auf Endo- und Brillantgrünplatten ausgestrichen.

Insgesamt wurden 359 Einsendungen der Typhusstation auf Stärkeplatten mitverarbeitet. Es handelte sich um 4 Blut-, 37 Urin- und 318 Stuhlproben. Von den letzteren sind 208 sowohl im Original als auch in der Anreicherung auf Stärkeplatten ausgewertet worden. 32 Stuhlproben wurden nur unmittelbar auf Stärkeplatten verimpft und 78 nur nach Anreicherung. Pathogene Darmbakterien ließen sich bei 49 Untersuchungsproben nachweisen. Die Ergebnisse im einzelnen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 2

Vergleich zwischen Agar- und Stärkeplatten.
Ergebnisse auf der Typhusstation.

Lfd. Nr.	Stat. Nr.	Material	Original Endoplatte		Anreicherung Endoplatte		Anreicherung Brillantgrün		Ergebnis	
			Agar	Stärke	Agar	Stärke	Agar	Stärke	Agar	Stärke
		Typhusbazillen								
1	111	Blut	.	.	+	+	.	.	+	+
2	208	Stuhl	.	.	+	—	+	—	+	—
3	209	Urin	.	.	+	—	—	—	+	—
4	241	Stuhl	+	—	+	—	+	—	+	—
5	242	Urin	.	.	+	—	—	—	+	—
6	365	Stuhl	+	+	+	+	(+)	+	+	+
7	369	Blut	.	.	+	+	.	.	+	+
8	454	Stuhl	+	—	+	+	(+)	+	+	+
9	463	Blut	.	.	+	+	.	.	+	+
10	501	Stuhl	+	—	+	—	+	+	+	+
11	508	Urin	—	+	.	.	.	.	—	+
12	528	Stuhl	+	—	+	+	+	+	+	+
13	537	Urin	—	+	.	.	.	.	—	+
14	539	Urin	—	+	.	.	.	.	—	+
15	553	Stuhl	+	+	+	—	—	+	+	+
16	569	Stuhl	+	—	.	.	.	.	+	—
17	588	Stuhl	.	.	—	—	+	—	+	—

Fortsetzung Tabelle 2

Lfd. Nr.	Stat. Nr.	Material	Original Endoplatte		Anreicherung Endoplatte		Anreicherung Brillantgrün		Ergebnis	
			Agar	Stärke	Agar	Stärke	Agar	Stärke	Agar	Stärke
18	614	Stuhl	+	+	+	+	+	+	+	+
19	652	Stuhl	+	+	.	.	.	.	+	+
20	722	Urin	+	+	+	—	—	—	+	+
21	734	Stuhl	+	+	+	+	(+)	+	+	+
22	735	Urin	—	—	+	+	+	+	+	+
23	795	Stuhl	+	—	+	—	(+)	+	+	+
24	1245	Stuhl	—	—	+	+	.	.	+	+
25	1246	Urin	.	.	+	+	.	.	+	+
26	1248	Blut	.	.	+	+	.	.	+	+
		Paratyphus-B-Bazillen								
27	811	Stuhl	+	+	+	+	+	+	+	+
28	838	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
29	854	Urin	.	.	+	+	+	+	+	+
30	920	Stuhl	.	.	+	+	+	+	+	+
31	993	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
32	994	Urin	.	.	+	+	+	+	+	+
33	1079	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
34	1080	Urin	—	—	+	+	+	+	+	+
35	1122	Stuhl	.	.	+	+	+	—	+	+
36	1185	Stuhl	.	.	+	+	+	+	+	+
		Paratyphus-Breslau-Bazillen								
37	200	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
38	519	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
39	767	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
40	1149	Stuhl	—	—	—	+	+	+	+	+
41	1192	Stuhl	.	.	+	+	+	+	+	+
		Paratyphus-Gärtner-Bazillen								
42	828	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
		Paratyphus-C-Bazillen								
43	1094	Stuhl	—	—	+	+	+	+	+	+
44	1095	Urin	.	.	+	+	+	+	+	+
45	1193	Stuhl	.	.	+	+	+	+	+	+
		Flexner-, Y-Ruhr-Bazillen								
46	206	Stuhl	+	—	—	—	—	—	+	—
47	476	Stuhl	+	—	—	—	—	—	+	—
48	526	Stuhl	+	—	—	—	—	—	+	—
49	1206	Stuhl	+	—	—	—	—	—	+	—

Von den 26 zur Untersuchung eingesandten Stuhl-, Urin- und Blutproben, bei welchen Typhusbazillen gefunden wurden,

wurden 20 mal auf Agar- und Stärkeplatten gleiche Ergebnisse erzielt. Bei 3 Einsendungen wurden auf Agar zunächst keine Typhusbazillen gefunden. Auf der anderen Seite konnten bei 3 Untersuchungsproben Typhusbazillen zunächst nur auf der Stärkeplatte nachgewiesen werden. Die Agglutinationen von verdächtigen Kolonien der entsprechenden Agarendoplatten fielen z. T. negativ, z. T. zweifelhaft aus. Erst als auf Grund der Ergebnisse auf Stärke das Material auf Agar neu überimpft und bei 22° bebrütet wurde, war auch hier die Agglutination einwandfrei vorhanden. Es handelt sich also um Stämme mit Vi-Antigen. Grundsätzlich agglutinieren auf Stärkebrillantgrünplatten die Kolonien ganz einwandfrei im Gegensatz zu den entsprechenden Agar-Brillantgrünplatten (s. Nr. 6, 8, 21, 23 in Tabelle 2). Bei weiteren 6 Untersuchungsproben waren auf den eintsprechenden Stärkeplatten keine pathogenen Keime zu finden. Wenn man berücksichtigt, daß die Mehrzahl der negativen Ergebnisse auf der Stärkeplatte gleich am Beginn der Untersuchungen erzielt wurden, als naturgemäß die Stärkeplatten noch nicht technisch so einwandfrei hergestellt werden konnten, wie dies später nach längerer Erfahrung möglich war, und zum Ablesen der Stärkeplatten noch nicht genügende Übung vorhanden war, kann man immerhin das Ergebnis als befriedigend bezeichnen.

Bei sämtlichen 19 Einsendungen, bei denen Paratyphusbazillen nachgewiesen werden konnten, wurden auf den entsprechenden Stärkeplatten vollkommen gleiche Befunde erhoben. Es handelte sich um Paratyphus-B-Bazillen, um Paratyphus Breslau-, Gärtner und Paratyphus-C-Bazillen.

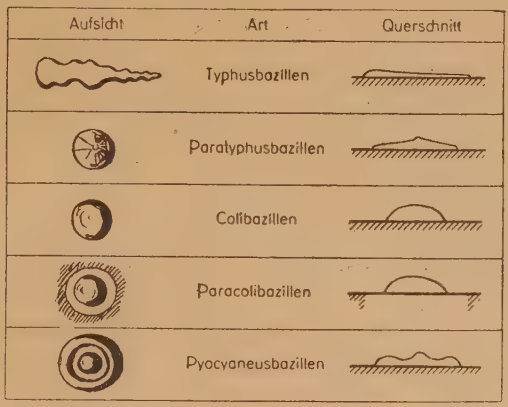
Bei den 4 Untersuchungsproben, bei denen auf Agar Pseudo-Ruhr-Bazillen der Flexner-Y-Gruppe ermittelt wurden, konnte auf den entsprechenden Stärkeplatten in keinem einzigen Falle ein positives Ergebnis erzielt werden. Allerdings handelte es sich dabei um alte Fälle, die nur noch vereinzelt Bazillen ausschieden. Die Assistentin, die die Vorgeschichte kannte, konnte auf Agarplatten dank ihrer größeren Erfahrung noch Ruhrbazillen identifizierten, wenn nur eine einzige Kolonie gewachsen war.

Das Wachstum auf Stärke- und auf Agarplatten ist in bezug auf die Zahl der aufgegangenen Kolonien im allgemeinen gleich. Manche apathogenen Keime wachsen in so charakteristischen Kolonien, daß es, oft im Gegensatz zu Agarplatten, nicht nötig ist, bunte Reihen anzulegen. Vor allem ist das bei Paracolibazillen der Fall, die auf Endostärke in farblosen undurchsichtigen Kolonien mit hellem, glasigem Hof wachsen und sich in geröteter Umgebung scharf abheben. Ebenso bei Pyocyaneusbazillen, die Kolonien mit zentralem Knopf, Graeben und äußerem Wall bilden. Typhusbazillen wachsen teils in zarten, runden Kolonien, teils

auch in einer äußerst charakteristischen Form wie verspritzte, wasserklare Tropfen, mit unregelmäßigen, gezackten Rändern. Paratyphusbazillen wachsen oft in einem ganz flachen Kegel, gelegentlich auch in Tropfen wie Typhusbazillen, Paratyphus-B-Bazillen bei Zimmertemperatur mit deutlichem Schleimwall. Die Kolonien der Colibazillen sind dagegen größer, gröber und undurchsichtiger.

Tabelle 3

Schema von Kolonienformen auf Stärkeplatten.
(Entnommen Zbl. f. Bakter. I Orig. **144**).



3. Varia-Station.

Es wurden bei 232 Einsendungen mittels Stärkeplatten 295 Befunde erhoben. Das Untersuchungsmaterial setzte sich wie folgt zusammen:

1. Galle und Duodenalsaft:	81	Einsendungen
2. Abstriche von Rachen, Nase, Mandeln und Kehlkopf:	32	„
3. Sputum:	40	„
4. Urin:	29	„
5. Eiter- und Wundabstriche:	27	„
6. Liquor:	13	„
7. Punktate, Peritonealexsudate:	10	„

Urin-, Gallen- und Duodenalsaft wurde, wie auf der Untersuchungsstation üblich, auf Blut-, Kochblut- und Endoplatten, Rachenabstriche und Sputumeinsendungen auf Blut-, Kochblut- und Aszitesplatten ausgestrichen. Eiter und Punktate wurden ebenfalls auf Blut-, Kochblut-, Aszites- und eventuell auf Endoplatten verarbeitet.

Tabelle 4. Vergleich zwischen Agar- und

	1		2		3		4		5		6	
Bakterien:	Staph. albus		Staph. aureus		Strepto-kokken		Vergrün. Strept.		Pneumo-kokken		Meningo-kokken	
Nährboden:	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St	Ag.	St.
Untersuchungsmaterial:												
Galle	11	10	27	25	6	4	43	25	1	1	—	—
Rachenabstriche	1	1	3	2	19	15	34	29	7	4	—	—
Sputum	2	2	5	4	10	7	4	4	32	28	—	—
Urin	4	3	5	5	3	2	1	0	—	—	—	—
Eiter	2	2	15	14	15	10	—	—	2	2	—	—
Liquor	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	4
Punktate	—	—	1	1	3	3	1	1	4	4	—	—
Auf Stärke nur mikroskopisch nachgewiesen:		2		0		4		5		3		0
auf Stärke nicht gefunden:		0		5 (4 x haem.)		11 (11 x haem.)		19		4		1
Gesamtbefunde:	20	20	56	51	56	45	83	64	46	42	5	4
Bemerkungen:												
Hämolyse auf Agar + auf Stärke +	0		23		32							
auf Agar + auf Stärke —	0		5		2							
auf Agar — auf Stärke +	0		9		2							
auf Agar — auf Stärke —	20		14		5							
Sonstiges												
auf Agar mucosus:					12				2			
auf Stärke mucosus:					11				—			
auf Stärke non muc.:					—				2			

Zu erwähnen ist, daß bei dem Untersuchungsmaterial insofern eine Auswahl getroffen wurde, als mit Ausnahme von Liquor- und Sputumeinsendungen die Ausstriche auf der Stärkeplatte erst 24 Stunden nach dem Eingang angefertigt wurden. Das auf Agar steril gebliebene Material wurde auf Stärkeplatten nicht ausgeimpft.

1. Staph. albus, der in 20 Fällen vorhanden war, konnte auf den entsprechenden Stärkeplatten 18 mal nachgewiesen werden, 2 mal waren die Bakterien aus der Kolonieform allein nicht zu diagnostizieren. Im mikroskopischen Präparat waren aber grampositive Kokken vorhanden.

Stärkeplatten. Ergebnisse auf der Variastation.

7		8		9		10		11		12		13		14		15	
Influenzabaz.		Pyocyaneusbaz.		Proteusbaz.		Colibaz.		Paracolibaz.		Bakt. fäkalis		Bakt. Friedländer		Oidium lactis		Befunde insgesamt	
Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.	Ag.	St.
—	—	—	—	2	2	20	19	—	—	5	4	5	5	5	3	125	98
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	2	2	67	54
9	2	—	—	—	—	4	3	—	—	—	—	1	0	—	—	67	50
—	—	—	—	2	2	11	11	3	3	2	2	—	—	—	—	31	28
—	—	2	2	—	—	6	6	1	1	—	—	—	—	—	—	43	37
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	4
—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	10	10
	0		0		0		0		0		0		0		0		14
	7		0		0		2		0		1		1		2		53
9	2	2	2	4	4	42	40	4	4	8	7	6	5	7	5	348	295
						0		2									57
						4		0									11
						0		0									11
						35		2									76
																	155
						1											
						1											
						—											

2. Staph. aureus non häm: Dieser war 24 mal auf Agar vorhanden. Er wurde 14 mal auf den entsprechenden Stärkeplatten ermittelt. In weiteren 9 Fällen war statt dessen Staph. aureus häm. vorhanden.

3. Staph. aureus häm. war 32 mal auf Agar nachweisbar, auf den entsprechenden Stärkeplatten 23 mal. Bei 5 Fällen war im Gegensatz zu Agar keine Hämolyse aufgetreten.

4. Strept. non häm., der 6 mal auf Agar nachgewiesen wurde, war auf Stärke 4 mal wiederzufinden. Bei 2 Platten war Hämolyse aufgetreten.

5. Hämolytische Streptokokken waren in 38 Fällen auf Agar vorhanden, auf Stärkeplatten, wie die Tabelle zeigt, nur 24 mal in Kolonien, außerdem 4 mal nur mikroskopisch nachweisbar.

6. Strept. mucosus trat 1 mal auf. Das Ergebnis auf Agar und Stärke war identisch.

7. Strept. mucosus häm. fand sich auf Agar 11 mal, auf Stärke nur 8 mal, 2 mal war auf Stärkeplatten Str. mucosus non häm.

8. Mundstreptokokken wurden auf Stärke in 33 von insgesamt 42 Fällen wiedergefunden. In 4 Fällen war aus der Kolonieform allein nicht die Diagnose stellbar. Im mikroskopischen Präparat waren aber grampositive Streptokokkenketten erkennbar.

9. Enterokokken konnten auf Stärke in 26 Fällen von insgesamt 41 als Kolonien und einmal nur mikroskopisch nachgewiesen werden.

10. Pneumokokken waren in 44 Proben vorhanden. Auf Stärke wurden sie 41 mal, davon 4 mal nur mikroskopisch wiedergefunden.

11. Pneumokokk. mucosus, der 2 mal vorkam, war auf Stärke in seiner charakteristischen Kolonieform nicht wiederzufinden. Er unterschied sich nicht von gewöhnlichen Pneumokokken.

12. Meningokokken, die 5 mal im Untersuchungsmaterial vorhanden waren, sind auf Stärkeplatten 4 mal, wie bei Agarplatten durch Agglutination nachgewiesen worden.

13. Influenzabazillen kamen 9 mal vor. Auf Stärkekochblutplatten wurden sie nur 2 mal nachgewiesen. Dieses ungünstige Ergebnis ist insofern nicht so schlecht zu werten, als die negativen Befunde im Anfang erhoben wurden, als gerade die Herstellung der Kochblutplatten erhebliche praktische Schwierigkeiten bereitete. Erst als dazu übergegangen wurde, nur die oben beschriebenen homogenen schokoladebraunen Kochblutplatten zu verwenden, waren Influenzabazillen auf Stärkeplatten mit größerer Sicherheit nachweisbar.

14. Pyocyaneusbazillen, die 2 mal auftraten, wuchsen auf Agar- und auf Stärkeplatten identisch.

15. Proteusbazillen: In den 4 Fällen wurde mit beiden Plattensorten ein gleiches Ergebnis gezeitigt.

16. Bakt. coli: Das Verhältnis der auf Agar- bzw. Stärkeplatten nachgewiesenen Fälle war 37 : 35.

17. Bakt. coli häm. war 4 mal auf Agar vorhanden. Auf Stärke war stattdessen B. coli non häm. gewachsen.

18. B. coli mucosus trat in einem Falle auf. Auf Stärke wurde ein gleiches Ergebnis wie auf Agar erzielt.

19. und 20. B. paracoli und B. paracoli häm.: Diese traten je 2 mal auf. Das Wachstum auf Agar- und Stärkeplatten war gleichartig.

21. B. fäcalis alcaligenes: Das Verhältnis der auf Agar bzw. Stärke nachgewiesenen Fälle betrug 8 : 7, bei

22. Friedländerbazillen: 6 : 5, bei

23. Oidium albicans: 7 : 5.

4. Beobachtete Kolonieform auf Stärkeplatten.

Staphylokokken wachsen in kleinen, erhabenen, runden und glattrandigen Kolonien auf Blut-, Kochblut- und Aszites-Stärkeplatten gleich gut. Die charakteristische Farbe tritt bei Staph. aureus und albus oftmals erst nach 48 Stunden deutlich hervor.

Streptokokken: Die Kolonien sind sehr klein, flach, rund und von farblosem bis weißlichgrauem Aussehen. Bei hämolytischen Streptokokken ist die Hämolyse zumeist deutlich. Mundstreptokokken zeigen auf Blut- und Kochblutstärkeplatten Vergrünung und wachsen auf Blutplatten oft in flachen braunen mittelgroßen Kolonien von glattrandiger Begrenzung. Bei Strept. mucosus sind die kleinen runden Kolonien von einem Schleimwall umgeben, der besonders deutlich wird, wenn die einzelnen Kolonien strichförmig aneinandergereiht sind.

Enterokokken: Die Kolonien sind klein, grauweiß, vergrünend und rund.

Pneumokokken: Diese wachsen in kleinen flachen, Blutplatten vergrünenden Kolonien. Teilweise sind auch nicht vergrünende Kolonieformen beobachtet worden.

Meningokokken: Mittelgroße, schwach durchscheinende, feuchtglänzende Kolonien von gelblichweißer Farbe. Das agglutinatorische Verhalten ist gut. Sie wachsen auf Aszitesstärkeplatten, sind aber auch auf Blutstärkeplatten oft nachweisbar.

Influenzabazillen bilden sehr kleine, zarte grauweiße Kolonien.

Pyocyaneusbazillen: Die Kolonien sind sehr groß, haben einen zentralen Knopf, Graben und äußeren Wall. Sie sehen flächenhaft aus und wirken wie terassenartig abgestuft. Sie sind zackig begrenzt und von blaugrüner Farbe.

Proteusbazillen bilden auf Stärkeplatten typische Schwarmkolonien. Mit Alkohol vorher behandelte Platten hemmen das Schwärmen.

Colibazillen wachsen in großen, flach gewölbten, glattrandig begrenzten, feucht glänzenden, weißlichgrauen Kolonien. Die Blutplatte wird oft braun gefärbt, sodaß Hämolyse vielfach nicht einwandfrei feststellbar ist.

B. faecalis alcaligenes: Die Kolonien sind sehr groß, feucht glänzend, schleimig und von grauer Farbe.

Friedländerbazillen bilden farblose, sehr große erhabene, schleimige, z. T. auf der Oberfläche fließende Kolonien.

Oidium albicans: Die Kolonien sind mittelgroß, weißgrau und rund.

Die Hämolyse verhält sich bei Stärkeplatten nicht immer vollkommen analog der bei Agarplatten, wie die Beobachtungen am Untersuchungsmaterial gezeigt haben. Bei Staphylokokken und Streptokokken, wie bei Colibazillen haben sich bisweilen Differenzen zwischen Agar- und Stärkeplatten ergeben. Es wurde 57 mal übereinstimmend Hämolyse auf beiden Plattenarten, 11 mal auf Agar Hämolyse, auf Stärke keine, 11 mal umgekehrt auf Agar keine, wohl auf Stärke Hämolyse und 76 mal in gleicher Weise keine Hämolyse beobachtet, d. h. in jeweils 7 % Abweichung nach der einen oder anderen Seite und in 86 % Übereinstimmung. Die Hämolyse ist bei Stärkeplatten noch schwieriger zu erkennen. Erschwert wird deren Beurteilung bei Colibazillen oftmals dadurch, daß diese ein wenig scharf abgegrenzte Braunfärbung des Nährbodens bei Blutplatten hervorrufen.

E. Zusammenfassung.

Im Anschluß an einen Überblick über die Geschiche der bakteriologischen Nährböden unter besonderer Berücksichtigung der Ersatzmittel für Agar wird über eigene praktische Erfahrungen bei der Herstellung fester Nährböden auf Stärkegrundlage berichtet. Es wurden Stärkeplatten im laufenden Betrieb auf der Typhus- und Variastation einer Medizinaluntersuchungsabteilung geprüft. Auf der Typhusstation wurden 359 Einsendungen mit insgesamt 49 positiven Befunden auf Agar- und Stärkeplatten gleichzeitig untersucht. Die Wachstumsergebnisse von Typhus- und Paratyphusbazillen waren auf Stärkeplatten recht gut. Für Ruhrbazillen versagte die Methodik. Auf der Variastation wurden 232 Einsendungen auf Stärkeplatten zum Vergleich mit Agarplatten ausgeimpft. Auch hier wurden mit Stärkeplatten beachtliche Erfolge erzielt. Es konnte in 257 von 348 Befunden die gleiche Diagnose gestellt werden, 24 mal bestanden Differenzen in bezug auf die Hämolyse bzw. Schleimbildung, 14 mal wurden auf Agar diagnostizierte Bakterien auf Stärke nur mikroskopisch, 53 mal überhaupt nicht gefunden.

F. Schrifttum.

1. E. Gildemeister: „Allgemeine Regeln für die Herstellung von Nährböden." Handbuch der pathogenen Mikroorganismen **9.** 929 ff (1929).
2. Miquel: zitiert nach Lubinski.
3. Brefeld: zitiert nach Lubinski.
4. Sette: „Memoria storica naturale sull' arrosimento straordinario di alcune sostance alimentose" Venezia 1824; zitiert nach Scheurlen: Arch. Hyg. **26.** 5 (1896).
5. Ehrenberg: Ber. über die Verh. d. Kgl. Akad. zu Berlin 1848 S. 349, zitiert nach Scheurlen.
6. Gildemeister: „Regenerierung von Agar." Handbuch Kolle-Kraus-Uhlenhuth **9.** 1035 (1929).
7. Attz und Hettche: „Nährböden und Farben in der Bakteriologie." Berlin, Springer 1935 S. 162.
8. Brandt: „Bakteriennährböden mit Sojabohnen- und Süßlupinenmehl als Grundlage." Zbl. f. Bakt. I Orig. 142. 316 ff (1938).
9. H. O. Hettche und W. Zigsch: „Ein neues Nährsubstrat für anspruchsvolle Bakterien." Arch. f. Hyg. **123.** 291 (1940).
10. L. Schwarz: „Methoden zum Nachweis von Bodenorganismen." Handbuch der pathog. Mikroorgan. **10.** 444 (1930).
11. W. Kühne: Z. Biol. **27.** N. F. **9.** 173 (1890) ref. nach Zbl. Bakt. **8.** 410 (1890).
12. P. Sleskin: Zbl. Bakt. **10.** 209 (1891).
13. Winogradsky: Ann. Pasteur **5.** 92 (1891), **39.** 299 (1925), **40.** 455 (1926).
14. Bojanowsky: Zbl. Bakt. II **64.** 222 (1925) ref. nach Handbuch Kolle-Kraus-Uhlenhuth **X.** 444.
15. R. Wahl: (Institut Pasteur) „Ein einfaches Verfahren, um feste synthetische Nährböden mit Kieselgel herzustellen." C. r. Soc. Biol. **128.** 854 (1938).
16. Hanks und Weintraub: J. physic. Chem. **41.** 583 (1937) ref. Chem. Zbl. (1938) I 279.
17. Batchelor und Wilson: Science (New York) (N. S.) **87.** 172 (1938) ref. Chem. Zbl. **1938** II 1745.
18. H. O. Hettche: Aussprache zum Vortrag von Schütz auf der Tagung der deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin. I Orig. **140.** 118 (1937) (Beiheft).

19. Münch: „Vorläufige Mitteilung über die Herstellung fester, agarfreier Nährböden durch Verwendung von kolloidaler Kieselsäure.“ Arch. f. Hyg. **117.** 129 (1937).
20. Hettche und Münch: „Die Verwendung von Kieselsäurenährböden bei der bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Abwasser.“ Arch. f. Hyg. **119.** 168 (1937).
21. Hettch und Münch: „Erfahrungen mit den Kieselsäurenährböden („Kiebo“) bei den Untersuchungen von Wasser und Abwasser.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **143.** 367 (1939).
22. Hettche: „Erfahrungen mit Kieselsäurenährböden.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **144.** 62 (1939) (Beiheft).
23. Hettche und Münch: „Kieselsäurenährböden zur Stuhluntersuchung.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **145.** 137 (1939).
24. G. Brunner: „Erfahrungen mit den Kieselsäurenährböden von Hettche und Münch.“ Der Deutsche Militärarzt. **4.** 229 (1939).
25. F. Schütz: „Demonstration eines neuen Nährbodens.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **140.** 118 (1937) (Beiheft).
26. W Zimmermann: „Demonstration neuer Nährböden als Ersatz für Agar.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **144.** 65 (1939) (Beiheft).
27. T. Wohlfeil: Aussprache zum Vortrag von Schütz auf der Tagung der deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin. Zbl. f. Bakt. **140.** 118 (1937) (Beiheft).
28. E. Funck: „Über den Ersatz von Agar-Agar durch Pektin bei bakteriologischen Arbeiten.“ Klin. Wschr. **16.** 1546 (1937).
29. W. Zimmermann: „Feste Nährböden auf Stärkegrundlage als Austausch für Agar-Agar.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **143.** 142 (1938).
30. W. Zimmermann: „Stärkenährböden als Ersatz für Agar-Agar.“ Klin. Wschr. **18.** 27 (1939).
31. E. Schindler: Diss. Breslau, 1939.
32. W. Steuer und E. Schindler: „Über die Leistungsfähigkeit des Brillantgrün-Phenolrotagars zur Typhus-Paratyphusdiagnose.“ Zbl. f. Bakt. I Orig. **146.** 49 ff (1940).

Jüdische Autoren:

33. Lubinski: „Das Plattenkulturverfahren und die Gewinnung von Reinkulturen.“ Handbuch der pathogenen Mikroorganismen **10.** 1 ff (1930).
34. Cohn: zitiert nach Lubinski.

Lebenslauf.

Am 14. März 1914 wurde ich, Helmut Göpel in Königshütte O/S geboren. Meine Eltern sind Studienrat a. D. Professor Otto Göpel und Frau Mimi, geb. Müncheberg. Ich bin Reichsdeutscher, evangelischen Bekenntnisses und arischer Abstammung.

In Königshütte O/S besuchte ich die Vorschule und dann die deutschen Minderheitsklassen des dortigen polnischen Gymnasiums. Infolge der Option meines Vaters für Deutschland mußte dieser im Herbst 1925 sein Amt als Oberstudienrat an den deutschen Klassen des Städtischen Lyzeums aufgeben. Er erhielt 1926 eine Studienratstelle am Staatlichen Realgymnasium in Ohlau, in dessen Quarta ich Ostern 1926 eintrat. Die Reifeprüfung bestand ich dort Ostern 1933.

Danach studierte ich 11 Semester Medizin in Breslau, wo ich die Ärztliche Vorprüfung ablegte und zwar den 1. Abschnitt im Mai 1934, den 2. Abschnitt im November 1935. Das Medizinische Staatsexamen bestand ich am 16. Dezember 1938 in Breslau.

Von Januar bis April 1939 war ich als Medizinalpraktikant in der Medizinischen Universitäts-Poliklinik in Breslau tätig. Anschließend daran arbeitete ich als solcher in der Chirurgischen Abteilung des Knappschaftskrankenhauses in Waldenburg (Schles.).

Die Bestallung als Arzt erhielt ich am 1. September 1939. Seitdem bin ich weiter im Waldenburger Knappschaftskrankenhaus als Assistenzarzt tätig.